(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 공개특허공보(A)

(11) 공개번호 10-2008-0093203
(43) 공개일자 2008년10월21일

(51) Int. Cl.
A61K 31/43 (2006.01) *A61K 31/185* (2006.01)
A61P 19/08 (2006.01)
(21) 출원번호 10-2007-0036799
(22) 출원일자 2007년04월16일
심사청구일자 2007년04월16일

(71) 출원인
경희대학교 산학협력단
경기도 용인시 기흥구 서천동 1 경희대학교 국제캠퍼스내
(72) 발명자
이재동
서울특별시 동대문구 이문동 426번지 삼성래미안APT 204-1601호
박동석
서울 송파구 문정2동 훼미리아파트 210동 1503호
(뒷면에 계속)
(74) 대리인
신동인

전체 청구항 수 : 총 5 항

(54) 알기닌, 신남산, 다이드진, 푸에라린, 팔마틴, 베르베린또는 베타-디-글루코피라노사이드로부터 선택된 화합물을유효성분으로 함유하는 골절 질환의 예방 및 치료용 조성물

(57) 요 약

본 발명은 알기닌, 신남산, 다이드진, 푸에라린, 팔마틴, 베르베린 또는 베타-디-글루코피라노사이드로부터 선택된 화합물을 함유하는 조성물에 관한 것으로, 상세하게는 상기 화합물들은 조골세포의 증식 및 분화 촉진, 알칼린 포스파타제(ALP, akaline phosphatase) 활성 촉진효과를 나타내므로 골절 질환의 예방 및 치료용 약학조성물 및 건강기능식품으로 유용하게 이용될 수 있다.

(72) 발명자

최도영

경기 광주시 오포읍 신현리 현대모닝사이드1차아파트 204동 1502호

백용현

서울 강남구 대치동 청실아파트 3동 1005호

허정은

서울 서대문구 연희동 712번지 14-6

양하루

서울 도봉구 쌍문4동 한양아파트 1동 1410호

오경애

서울 동대문구 회기동 103-96번지 303호

특허청구의 범위

청구항 1

알기닌(arginine), 신남산(cinnamic acid), 다이드진(daidzin), 푸에라린(puerarin), 팔마틴(palmatine), 베르베린(berberine) 또는 베타-디-글루코피라노사이드(β-D-glucopyranoside)로부터 선택된 화합물을 유효성분으로 함유하는 골절 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물.

청구항 2

제 1항에 있어서, 상기 골절 질환은 완전골절, 불완전골절, 분쇄성골절, 개방성골절, 폐쇄성골절, 압박성골절, 치밀성골절, 분열성골절 또는 병리적골절인 약학조성물.

청구항 3

제 1항에 있어서, 조성물 총 중량에 대하여 상기 화합물을 0.1 ~ 50 중량% 포함함을 특징으로 하는 약학조성물.

청구항 4

알기닌(arginine), 신남산(cinnamic acid), 다이드진(daidzin), 푸에라린(puerarin), 팔마틴(palmatine), 베르베린(berberine) 또는 베타-디-글루코피라노사이드(β-D-glucopyranoside)로부터 선택된 화합물을 유효성분으로 함유하는 골절 질환의 예방 및 개선용 건강기능식품.

청구항 5

제 4항에 있어서, 정제, 캡슐제, 환제 또는 액제인 건강기능식품.

명 세 서

발명의 상세한 설명

발명의 목적

발명이 속하는 기술 및 그 분야의 종래기술

<1> 본 발명은 알기닌, 신남산, 다이드진, 푸에라린, 팔마틴, 베르베린 또는 베타-디-글루코피라노사이드로부터 선택된 화합물을 유효성분으로 함유하는 골절질환의 예방 및 치료용 조성물에 관한 것이다.

<2> 골절이란 외부로부터의 물리적 충격이나 압박으로 뼈의 연속성이 파괴되는 것이다. 골절은 뼈의 손상에 그치지 않고 그 가까이에 있는 신경 ·근육 ·혈관 등의 손상을 수반하는 일이 적지 않다. 그 결과 말초근의 마비나 근육의 구련(拘攣) ·위축 등을 일으키기 때문에 골절된 수족의 운동기능 회복이 충분하지 못하게 된다. 신체적 징후는 골절된 부분의 기형·부어오름·피부의 변색 등과 함께 정상적으로 움직이지 못하게 되는 것이다. 골절은 어느 경우나 같은 방식으로 치유되는데, 손상된 뼈에는 곧바로 새로운 조직이 만들어져 골절선을 따라 확장되면서 부서진 조각들을 서로 결합시킨다. 이 조직은 처음에는 부드럽고 물렁하지만 나중에는 골화(骨化)되고 딱딱해진다. 재형성되는 동안은 뼈가 무게를 받거나 골절된 뼈 사이가 움직이지 않도록 보호해야 한다. 따라서 감염, 화농 등을 염려하는 치료 뿐 만 아니라 운동기능 회복을 포함하는 적극적인 골절의 치료가 필요하다.

<3> 정상적으로 또는 병적으로 골절이 잘 생기는 경우는 다음과 같다. 어린이들은 칼슘침착이 덜 되어 뼈가 약하고 노인, 특히 폐경기가 지난 여자들은 나이가 들어감에 따라 뼈가 약해지는 골다공증(骨多孔症, osteoporosis)이 생긴다. 골절은 위의 2가지 경우에서 특히 잘 발생한다. 골격의 병리학적인 변화 때문에 뼈가 약해지기도 하는데, 이러한 경우에 아주 작은 압박만 가해져도 골절이 일어난다. 그 밖에 보건·영양·유전 등의 다른 요인이 골절이 쉽게 생기는 정도와 골절된 뒤 치유력에 영향을 미친다.

<4> 혈관신생 (angiogenesis)은 기존의 혈관에서 새로운 혈관이 만들어지는 일련의 과정으로, 혈관을 구성하고있는 내피세포의 이동 (migration)과 세포간 장벽인 세포외기질 (ECM; extracellular matrix)을 통과하는 침윤(invasion), 성장(proliferation), 혈관이 만들어지는 단계인 분화(tube-like formation)의 단계를 거치며

이에 대한 유도물질과 억제물질 간의 균형에 의하여 정교하게 조절되는 것으로 알려져 있다 (Schott RJ and Morrow LA, *Cardiovasc. Res.*, 27(7), pp1155-1161, 1993). 이는 고도로 조절되는 과정으로 상처치유과정 및 배 또는 황체 엑스의 발생을 제외한 정상상태에서는 거의 일어나지 않는다 (Folkman J and Shing Y, *J. Biol.Chem.*, 267(16), pp10931-10934, 1992). 전반적으로 혈관형성은 연관된 기저막의 효소에 의한 퇴화로 시작되는 몇 가지의 단계와 연관되어 있다. 게다가, 혈관신생에는 혈소판-유래성장인자 (platelet-derived growth factor), 골형성단백질-2 (BMP-2; bone morphogenic protein-2), 혈관내피세포성장인자 (VEGF; vascular endothelial growth factor), 및 섬유아세포성장인자 (bFGF: basic fibroblast growth factor, FGF-2: fibroblast growth factor)와 같은 혈관신생인자에 의한 적절한 자극이 필요하다 (Folkman J and Shing Y, *J. Biol.Chem.*, 267(16), pp10931-10934, 1992; Ferrara N, *Recent Prog. Horm. Res.*, 55, pp15-35, 2000; Burgess WT and Maciag T, *Annu. Rev. Biochem.*, 58, pp575-606, 1989).

<5> 최근에는 혈류공급의 영향을 비교적 많이 받는 근골격계에서도 혈관생성의 중요성이 부각되면서 치료성 혈관신생이 각광을 받기 시작하였고, 골유합, 골형성, 골이식, 국소 허혈성 골괴사 등에서 혈관형성의 촉진이 이들의 치료에 도움을 주는 것으로 알려져 활용되고 있다 (안재훈 등, *대한정형외과학회지*, 34, pp631-642, 1999). 모세혈관에서 혈장단백질의 투과를 증가시키는 사이토카인 (cytokine)으로서, 세포의 분열과 이동을 촉진하고 세포소멸의 억제를 통해 새로 형성된 혈관의 생존을 유지시키며, 혈관세포의 이동을 촉진시켜 새로운 세포의 발생 및 분화를 촉진시키는 VEGF는 최근 연구에서 뼈 성장 조절에 대한 역할에 많은 관심이 집중되었으며, BMP-2 보다 조골세포의 증식에 더 강력한 유도활성을 갖는다고 보고되었다 (Midy V and Plouet J, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 199(1), pp380-386, 1994). 또한 스타틴 (statin)이 VEGF 및 BMP-2 같은 골 동화 요소의 발현을 촉진시키고, 이에 따라 조골세포 (osteoblast)의 증식 및 석회화 (calcification)를 촉진됨이 보고되었다 (Maeda T. et al., *Endocrinology*, 144(2), pp681-692, 2003).

<6> 골은 석회화된 견고한 표면과 골수로 불리는 내부의 세포 성분이 결합된 특수조직이다. 생리적으로 상이한 이 두 구조의 결합은 일생을 두고 지속되는 골의 재형성 (bone remodeling) 과정에 기인한 것인데, 이는 골에 가해지는 호르몬이나 물리적 자극에 의해 골수에 있는 파골세포 (osteoclast)들이 골의 표면으로 모여 골을 파들어 가면서 파괴하는 골흡수 (bone resorption)와 흡수가 일어난 자리에 모여든 조골세포 (osteoblast)에 의한 골기질의 합성 (bone formation)으로 설명된다 (Park JS, *Natl. Nutr.*, 215, pp25-31, 2000).

<7> 골표면에 위치하는 조골세포는 세포막에 당단백 효소인 알칼리 포스파타제 (ALP; alkaline phosphatase)를 가지고 있으며 I 형 콜라겐 (Col I; type I Collagen), 오스테오칼신 (OCN; osteocalcin), 오스테오폰틴 (OPN; osteopontin), 뼈 시알로단백 (BSP; bone sialoprotein)과 같은 골기질 물질을 분비하고 석회화시키는 역할을 한다 (Collier FM et al., *Endocrinology*, 139(3), pp1258-1267, 1998).

<8> 현재 관절염, 골절, 골다공증등에 상용되는 약재들(스테로이드 계열 및 비스테로이드계통(NSAIDS)의 진통제인 아스피린, 이소프로펜, 나프록센 소디움 및 여성호르몬 제제)는 소화장애, 위장관 장애 및 신장기능 감소 등과 같은 전신적인 부작용을 유발하여 환자의 연령이 증가할수록 부작용 발생의 빈도가 높아져 노년층에서 많이 유발되는 골관절 질환의 치료시 장기간에 걸친 전신 투여는 많은 문제점을 내포하고 있다(Kahvecioglu S et al., *Nephrology*, 11(3), pp232-7, 2006; Hoefert et al., *Orthopade.*, 35(2), pp206-209, 2006).

<9> 따라서 골절의 치료 및 골재생에 있어 부작용을 극소화하며 효과가 우수한 새로운 처방의 필요성이 대두되고 있으며 이에 따라 한약물의 신약개발에 대한 관심이 세계 각국으로부터 집중되고 있다.

<10> 이에 본 발명자들은 알기닌, 신남산, 다이드진, 푸에라린, 팔마틴, 베르베린 또는 베타-디-글루코피라노사이드로부터 선택된 화합물의 조골세포의 증식 및 분화 촉진, 알칼린 포스파타제(ALP, akaline phosphatase) 활성 촉진 효과를 확인함으로써 본 발명을 완성하게 되었다.

발명이 이루고자 하는 기술적 과제

<11> 본 발명의 목적은 조골세포의 증식 및 분화 촉진, 알칼린 포스파타제(ALP, akaline phosphatase) 활성 촉진 효과를 갖는 알기닌, 신남산, 다이드진, 푸에라린, 팔마틴, 베르베린 또는 베타-디-글루코피라노사이드로부터 선택된 화합물을 유효성분으로 함유하는 골절 질환의 예방 및 치료용 조성물을 제공하는 것이다.

발명의 구성 및 작용

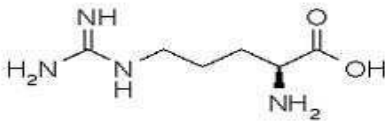
<12> 상기 목적을 달성하기 위하여, 본 발명은 하기 화학식 (A) 내지 (G)로 표기되는 알기닌, 신남산, 다이드진, 푸에라린, 팔마틴, 베르베린 또는 베타-디-글루코피라노사이드로부터 선택된 화합물을 유효성분으로 함유하

는 골절 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

<13> 또한 본 발명은 하기 화학식 (A) 내지 (G)로 표기되는 알기닌, 신남산, 다이드진, 푸에라린, 팔마틴, 베르베린 또는 베타-디-글루코피라노사이드로부터 선택된 화합물을 유효성분으로 함유하는 골절 질환의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

화학식 1

<14> 알기닌(arginine)

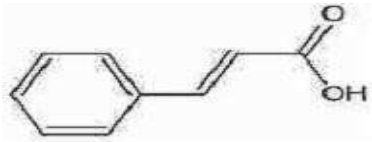


<15>

<16> (A)

화학식 2

<17> 신남산(cinnamic acid)

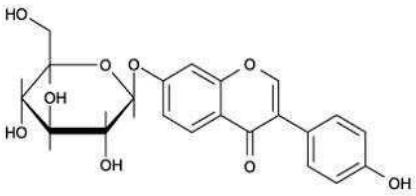


<18>

<19> (B)

화학식 3

<20> 다이드진(daidzin)

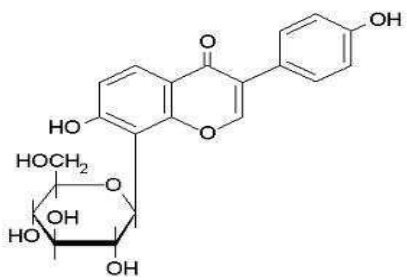


<21>

<22> (C)

화학식 4

<23> 푸에라린(puerarin)

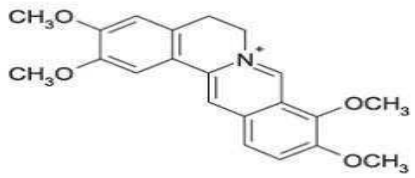


<24>

<25> (D)

화학식 5

<26> 팔마틴(palmatine)

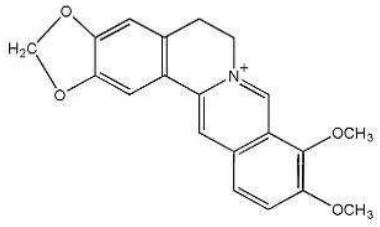


<27>

<28> (E)

화학식 6

<29> 베르베린(berberine)

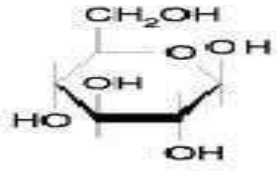


<30>

<31> (F)

화학식 7

<32> 베타-디-글루코피라노사이드(β-D-glucopyranoside)



<33>

<34> (G)

<35> 상기의 골절 질환은 완전골절, 불완전골절, 분쇄성골절, 개방성골절, 폐쇄성골절, 압박성골절, 치밀성골절, 분열성골절 또는 병리적골절로부터 선택된 하나 이상의 질환, 바람직하게는 완전골절, 폐쇄성골절 등을 포함한다.

<36> 본 발명의 화합물들은 시중구입가능하거나 황기, 계지, 자초, 갈근, 지각 또는 황백의 생약추출물의 분리 공정을 통해 수득가능하다.

<37> 본 발명의 화합물을 유효성분으로 함유하는 골절 질환의 예방 및 치료용 조성물은, 조성물 총 중량에 대하여 상기 화합물을 0.1 ~ 50 중량% 포함한다.

<38> 본 발명은 본 발명의 화합물을 유효성분으로 함유하는 골절 질환의 예방 및 치료용 약학 조성물을 제공한다.

<39> 본 발명의 화합물을 포함하는 조성물은 약학적 조성물의 제조에 통상적으로 사용하는 적절한 담체, 부형제 및 희석제를 더 포함할 수 있다.

<40> 본 발명의 화합물의 약학적 투여 형태는 이들의 약학적 허용 가능한 염의 형태로도 사용될 수 있고, 또한 단독으로 또는 타 약학적 활성 화합물과의 결합뿐만 아니라 적당한 집합으로 사용될 수 있다.

<41> 본 발명에 따른 화합물을 포함하는 조성물은, 각각 통상의 방법에 따라 산제, 과립제, 정제, 캡슐제, 현탁액, 에멀젼, 시럽, 에어로졸 등의 경구형 제형, 외용제, 좌제 및 멸균 주사용액의 형태로 제형화하여 사용될 수 있다. 본 발명의 추출물을 포함하는 조성물에 포함될 수 있는 담체, 부형제 및 희석제로는 락토즈, 덱스트로즈, 수크로스, 솔비톨, 만니톨, 자일리톨, 에리스리톨, 말티톨, 전분, 아카시아 고무, 알지네이트, 젤라틴,

칼슘 포스페이트, 칼슘 실리케이트, 셀룰로즈, 메틸 셀룰로즈, 미정질 셀룰로스, 폴리비닐 피롤리돈, 물, 메틸 히드록시벤조에이트, 프로필히드록시벤조에이트, 탈크, 마그네슘 스테아레이트 및 광물유를 들 수 있다. 제제화할 경우에는 보통 사용하는 충진제, 증량제, 결합제, 습윤제, 붕해제, 계면활성제 등의 희석제 또는 부형제를 사용하여 조제된다. 경구투여를 위한 고형제제에는 정제, 환제, 산제, 과립제, 캡슐제 등이 포함되며, 이러한 고형제제는 상기 추출액에 적어도 하나 이상의 부형제 예를 들면, 전분, 칼슘카보네이트 (calcium carbonate), 수크로스 (sucrose) 또는 락토오스 (lactose), 젤라틴 등을 섞어 조제된다. 또한 단순한 부형제 이외에 마그네슘 스테아레이트, 탈크 같은 윤활제들도 사용된다. 경구를 위한 액상 제제로는 현탁제, 내용액제, 유제, 시럽제 등이 해당되는데 흔히 사용되는 단순희석제인 물, 리퀴드 파라핀 이외에 여러 가지 부형제, 예를 들면 습윤제, 감미제, 방향제, 보존제 등이 포함될 수 있다. 비경구 투여를 위한 제제에는 멸균된 수용액, 비수성용제, 현탁제, 유제, 동결건조 제제, 좌제가 포함된다. 비수성용제, 현탁제로는 프로필렌글리콜 (propylene glycol), 폴리에틸렌 글리콜, 올리브 오일과 같은 식물성 기름, 에틸올레이트와 같은 주사 가능한 에스테르 등이 사용될 수 있다. 좌제의 기제로는 위텝솔 (witepsol), 마크로골, 트윈 (tween) 61, 카카오지, 라우린지, 글리세로제라틴 등이 사용될 수 있다.

<42> 본 발명의 화합물의 바람직한 투여량은 환자의 상태 및 체중, 질병의 정도, 약물형태, 투여경로 및 기간에 따라 다르지만, 당업자에 의해 적절하게 선택될 수 있다. 그러나 바람직한 효과를 위해서, 본 발명의 추출물은 1일 0.0001 내지 100 ㎎/㎏으로, 바람직하게는 0.001 내지 100 ㎎/㎏으로 투여하는 것이 좋다. 투여는 하루에 한번 투여할 수도 있고, 수회 나누어 투여할 수도 있다. 상기 투여량은 어떠한 면으로든 본 발명의 범위를 한정하는 것은 아니다.

<43> 본 발명의 화합물은 쥐, 생쥐, 가축, 인간 등의 포유동물에 다양한 경로로 투여될 수 있다. 투여의 모든 방식은 예상될 수 있는데, 예를 들면, 경구, 직장 또는 정맥, 근육, 피하, 자궁내 경막 또는 뇌혈관내 (intracerebroventricular) 주사에 의해 투여될 수 있다.

<44> 또한, 본 발명은 본 발명의 화합물들을 유효성분으로 함유하는 골절질환의 예방 및 개선용 건강기능식품을 제공한다.

<45> 상기 화합물을 첨가할 수 있는 식품으로는, 예를 들어, 각종 식품류, 음료, 껌, 차, 비타민 복합제, 건강 기능성 식품류, 분말, 과립, 정제, 캡슐 또는 음료 등이 있다.

<46> 또한, 골절질환의 예방 및 개선 효과를 목적으로 식품 또는 음료에 첨가될 수 있다. 이때, 식품 또는 음료 중의 상기 추출물의 양은 전체 식품 중량의 0.01 내지 15 중량%로 가할 수 있으며, 건강 음료 조성물은 100 ㎖를 기준으로 0.02 내지 5 g, 바람직하게는 0.3 내지 1 g의 비율로 가할 수 있다.

<47> 본 발명의 건강기능식품은 정제, 캡슐제, 환제, 액제등의 형태를 포함한다. 본 발명의 건강 기능성 음료 조성물은 지시된 비율로 필수 성분으로서 상기 화합물을 함유하는 외에는 다른 성분에는 특별한 제한이 없으며 통상의 음료와 같이 여러 가지 향미제 또는 천연 탄수화물 등을 추가 성분으로서 함유할 수 있다. 상술한 천연 탄수화물의 예는 모노사카라이드, 예를 들어, 포도당, 과당 등; 디사카라이드, 예를 들어 말토스, 슈크로스 등; 및 폴리사카라이드, 예를 들어 덱스트린, 시클로덱스트린 등과 같은 통상적인 당, 및 자일리톨, 소르비톨, 에리트리톨 등의 당알콜이다. 상술한 것 이외의 향미제로서 천연 향미제 (타우마틴, 스테비아 추출물(예를 들어 레바우디오시드 A, 글리시르히진 등) 및 합성 향미제 (사카린, 아스파르탐 등)를 유리하게 사용할 수 있다. 상기 천연 탄수화물의 비율은 본 발명의 조성물 100 ㎖당 일반적으로 약 1 내지 20g, 바람직하게는 약 5 내지 12g이다.

<48> 상기 외에 본 발명의 화합물은 여러 가지 영양제, 비타민, 광물(전해질), 합성 풍미제 및 천연 풍미제 등의 풍미제, 착색제 및 중진제(치즈, 초콜릿 등), 펙트산 및 그의 염, 알긴산 및 그의 염, 유기산, 보호성 콜로이드 증점제, pH 조절제, 안정화제, 방부제, 글리세린, 알콜, 탄산음료에 사용되는 탄산화제 등을 함유할 수 있다. 그밖에 본 발명의 추출물은 천연 과일 주스 및 과일 주스 음료 및 야채 음료의 제조를 위한 과육을 함유할 수 있다. 이러한 성분은 독립적으로 또는 조합하여 사용할 수 있다. 이러한 첨가제의 비율은 그렇게 중요하진 않지만 본 발명의 화합물 100 중량부 당 0 내지 약 20 중량부의 범위에서 선택되는 것이 일반적이다.

<49> 이하, 본 발명을 하기 실시예 및 실험예에 의해 상세히 설명한다.

<50> 단, 하기 실시예 및 실험예는 본 발명을 예시하는 것일 뿐, 본 발명의 내용이 하기 실험예에 의해 한정되는 것은 아니다.

<51> **실시예 1. 화합물들의 준비**

<52> 알기닌(Fluca, Cat No. 11009), 신남산(Sigma, Cat No. C8,085-7), 다이드진(Fluka, Cat No. 30408), 푸에라린(Fluka, Cat No. 82435), 팔마틴(Aldrich, Cat No. 361615), 베르베린(Sigma, Cat No. B3251) 및 베타-디-글루코피라노사이드(Aldrich, Cat No. 292710)를 각각 구입하여 사용하였다.

<53> **참고예 1. 사람의 하악골에서 분리한 조골세포 배양**

<54> 정형외과 환자의 하악골에서 얻어진 조직으로부터 콜라겐에이즈 Ⅱ형을 이용하여 세포를 수득하였으며, 15% 우태아혈청(FBS)과 1 % 페니실린/스트렙토마이신(인비트로젠사, 캘리포니아, 미국), 5mg/ml 아스코르브산과 10^{-8}M 덱사메타손(Dexamethason)이 첨가된 배지(McCoy's 5A, Gibco BRL, 미국)를 이용하여 배양하였다.

<55> **실험예 1. 사람의 하악골에서 분리한 조골세포에서 화합물의 활성 측정**

<56> 알기닌(arginine), 신남산(cinnamic acid), 다이드진(daidzin), 푸에라린(puerarin), 베르베린(berberine), 팔마틴(palmatine) 및 b-D-글루코피라노사이드(b-D-glucopyranoside)의 세포성장 및 알칼린 포스파타제에 대한 효과를 알아보기 위하여, WST-8 어세이 방법(셀 카운팅 키트-8, 도진도 분자 테크날리지, 도쿄)을 이용하여 세포생존율을 측정하였고, 키트(ALP 키트, 시그마 알드리치사, MO, 미국)를 이용하여 알칼린 포스파타제(ALP, alkaline phosphatase)의 활성을 측정하였다.

<57> 참고예 1에서 배양한 조골세포를 $1x10^4$ 세포수/웰의 농도로 96-웰 플레이트에 분주한 후, 각 화합물을 10uM의 농도로 100㎕씩 첨가하여 72시간 동안 배양하였다. 10㎕의 WST-8(수용성 테트라졸염;2-(2-메톡시-4-나이트로페닐)-3-(4-나이트로페닐)-5-(2,4-다이설포페닐)-2H-테트라졸리움, 모노소티움 염)를 가하고 2시간 더 배양하여 WST-8 포르마잔이 형성되어 발색되면 ELISA 판독기를 사용하여 450nm에서 흡광도를 측정하여 정량하였다. 시료를 첨가하지 않은 대조군에 대한 시료처리군의 흡광도(%)를 이용하여 세포생존율을 측정하였다.

<58> 참고예 1에서 배양한 조골세포를 $1x10^4$ 세포수/웰의 농도로 96-웰 플레이트에 분주한 후, 각 화합물을 10uM의 농도로 100㎕씩 첨가하여 72시간 동안 배양하였다. 그런 후 조골세포를 0.1% 트리톤 X-100 (Triton X-100, 시그마, 미국)으로 용해시키고, 초음파 기계 (브란슨사, 미국)로 처리 후 12,000g, 4℃에서 10분간 원심 분리하였다. 상등액을 반응 완충액(reaction buffer)과 함께 37℃에서 3분간 배양한 후, 0.1 N NaOH를 이용하여 반응을 정지시키고, 405nm에서 흡광도를 측정하였다. 표준선은 파라-니트로페놀 (p-nitrophenol;시그마 알드리치사, MO, 미국)을 사용하여 정량하였고, 이를 근거로 시료의 알칼린 포스파타제의 양을 환산하였고, 그 결과를 하기 표 1에 나타내었다.

표 1

<59>

화합물 (10uM)	세포성장 (%)	알칼린 포스파타제 (%)
대조군	100	100
알기닌	124.4	343.5***
신남산	182.4***	155.1**
다이드진	115.2	116.4
푸에라린	134.3**	129.2**
팔마틴	105.9	148.0**
베르베린	170.5**	177.8**
베타-디-글루코피라노사이드	115.8	175.0**
**: P < 0.01 ***: P < 0.001		

<60> 실험 결과, 상기 표 1에 나타난 바와 같이, 신남산, 푸에라린, 베르베린은 세포성장에 약 134 내지 182%, 알칼린 포스파타제에 약 129 내지 177%로 그 효과가 탁월하였고, 알기닌, 다이드진, 팔마틴, 베타-디-글루코피라노사이드는 약 116 내지 343%로 알칼린 포스파타제 촉진에 더 큰 효과가 있었다. 이로부터 상기 화합물은 사람의 조골세포에서 세포 성장 및 분화에 관여한다는 사실을 알 수 있었다.

<61> 하기에 본 발명의 화합물을 함유하는 약학조성물의 제제예를 설명하나, 본 발명은 이를 한정하고자 함이

아닌 단지 구체적으로 설명하고자 함이다.

<62> **제제예 1. 산제의 제조**

<63> 신남산 20 mg

<64> 유당 100 mg

<65> 탈크 10 mg

<66> 상기의 성분들을 혼합하고 기밀포에 충진하여 산제를 제조한다.

<67> **제제예 2. 정제의 제조**

<68> 다이드진 10 mg

<69> 옥수수전분 100 mg

<70> 유당 100 mg

<71> 스테아린산 마그네슘 2 mg

<72> 상기의 성분들을 혼합한 후 통상의 정제의 제조방법에 따라서 타정하여 정제를 제조한다.

<73> **제제예 3. 캅셀제의 제조**

<74> 푸에라린 10 mg

<75> 결정성 셀룰로오스 3 mg

<76> 락토오스 14.8 mg

<77> 마그네슘 스테아레이트 0.2 mg

<78> 통상의 캡슐제 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합하고 젤라틴 캡슐에 충전하여 캡슐제를 제조한다.

<79> **제제예 4. 주사제의 제조**

<80> 베르베린 10 mg

<81> 만니톨 180 mg

<82> 주사용 멸균 증류수 2974 mg

<83> $Na_2HPO_4,12H_2O$ 26 mg

<84> 통상의 주사제의 제조방법에 따라 1 앰플당 (2㎖) 상기의 성분 함량으로 제조한다.

<85> **제제예 5. 액제의 제조**

<86> 팔마틴 20 mg

<87> 이성화당 10 g

<88> 만니톨 5 g

<89> 정제수 적량

<90> 통상의 액제의 제조방법에 따라 정제수에 각각의 성분을 가하여 용해시키고 레몬향을 적량 가한 다음 상기의 성분을 혼합한 다음 정제수를 가하여 전체를 정제수를 가하여 전체 100㎖로 조절한 후 갈색병에 충진하여 멸균시켜 액제를 제조한다.

<91> **제제예 6. 건강 식품의 제조**

<92> 베타-디-글루코피라노사이드 1000 mg

<93> 비타민 혼합물 적량

<94> 비타민 A 아세테이트 70 ㎍

<95> 비타민 E 1.0 mg

<96> 비타민 B1 0.13 mg

<97> 비타민 B2 0.15 mg

<98> 비타민 B6 0.5 mg

<99> 비타민 B12 0.2 ㎍

<100> 비타민 C 10 mg

<101> 비오틴 10 ㎍

<102> 니코틴산아미드 1.7 mg

<103> 엽산 50 ㎍

<104> 판토텐산 칼슘 0.5 mg

<105> 무기질 혼합물 적량

<106> 황산제1철 1.75 mg

<107> 산화아연 0.82 mg

<108> 탄산마그네슘 25.3 mg

<109> 제1인산칼륨 15 mg

<110> 제2인산칼슘 55 mg

<111> 구연산칼륨 90 mg

<112> 탄산칼슘 100 mg

<113> 염화마그네슘 24.8 mg

<114> 상기의 비타민 및 미네랄 혼합물의 조성비는 비교적 건강식품에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하며, 통상의 건강식품 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 과립을 제조하고, 통상의 방법에 따라 건강식품 조성물 제조에 사용할 수 있다.

<115> **제제예 7. 건강 음료의 제조**

<116> 알기닌 1000 mg

<117> 구연산 1000 mg

<118> 올리고당 100 g

<119> 매실농축액 2 g

<120> 타우린 1 g

<121> 정제수를 가하여 전체 900 ㎖

<122> 통상의 건강음료 제조방법에 따라 상기의 성분을 혼합한 다음, 약 1시간동안 85 ℃에서 교반 가열한 후, 만들어진 용액을 여과하여 멸균된 2 ℓ 용기에 취득하여 밀봉 멸균한 뒤 냉장 보관한 다음 본 발명의 건강음료 조성물 제조에 사용한다.

<123> 상기 조성비는 비교적 기호음료에 적합한 성분을 바람직한 실시예로 혼합 조성하였지만, 수요계층, 수요국가, 사용용도 등 지역적, 민족적 기호도에 따라서 그 배합비를 임의로 변형 실시하여도 무방하다.

발명의 효과

<124> 본 발명의 알기닌, 신남산, 다이드진, 푸에라린, 팔마틴, 베르베린 및 베타-디-글루코피라노사이드 화합물은 조골세포의 증식 및 분화 촉진, 알칼린 포스파타제(ALP, akaline phosphatase) 활성 촉진 효과를 나타내므

로 골절 질환의 예방 및 치료용 약학조성물 및 건강기능식품으로 유용하게 이용될 수 있다.